

**DER ALTERSABHÄNGIGE EINFLUSS  
VON NAHRUNGSENTZUG UND ADRENALIN AUF  
DEN ENERGIE-, KOHLEHYDRAT- UND FETTSTOFF-  
WECHSEL WEISSER MÄUSE**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

**Ernst Schubert**

aus

**Tübingen**

1971

D 29

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät  
der Universität Erlangen - Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. W. Schiefer

Referent: Prof. Dr. F. Heim

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Februar 1971

# Molekulare und zelluläre Aspekte des Alterns

1. Gießener Symposion über Experimentelle Gerontologie  
12. und 13. März 1971

Herausgegeben von

**Prof. Dr. D. PLATT**

und

**Prof. Dr. H.-G. LASCH**

Medizinische Universitätsklinik Gießen

Mit 60 Abbildungen und 13 Tabellen





# Der altersabhängige Einfluß von Nahrungsentzug und Adrenalin auf den Energie-, Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel weißer Mäuse

H. P. T. AMMON, E. SCHUBERT und F. HEIM

Adipositas und Übergewicht sind häufige Krankheiten oder besser gesagt, Krankheitsursachen des Alters. Sie lassen sich wahrscheinlich nur durch Einschränkung oder vorübergehenden Entzug der Nahrungsaufnahme oder durch eine Steigerung des Energieumsatzes beseitigen. Wir haben den Einfluß beider Maßnahmen auf Tiere verschiedenen Alters untersucht und dazu männliche weiße Mäuse im Alter von 3–57 Wochen verwendet, eine Warmblüterspezies, die aufgrund des ungünstigen Verhältnisses von Körpergewicht zu Körperoberfläche relativ hohe Wärmeverluste und deshalb einen großen Energieumsatz hat. Er beträgt, auf das Körpergewicht bezogen, rund das Zehnfache des Menschen. Um einen Hungerstoffwechsel zu erzeugen, genügte deshalb schon ein Nahrungsentzug von 4 Std., um eine Verbrennungssteigerung zu erwirken, die subkutane Injektion von 0,5  $\mu\text{g/g}$  Adrenalin.

Uns interessierte als erstes, in welcher Form die mit der Nahrung aufgenommenen Energiespender, abhängig vom Lebensalter der Tiere, gespeichert werden, ob als Kohlenhydrate oder Fette. Die zweite uns interessierende Frage war, welche der beiden Energiereserven dann mobilisiert werden, wenn man Tiere verschiedenen Alters hungern läßt, d. h. einen Zustand herbeiführt, in dem der Energiebedarf aller Körperzellen aus den Energiereserven der Leber und des Fettgewebes gedeckt werden muß. Als drittes interessierte uns die Altersabhängigkeit der Wirkung von Adrenalin auf den Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel sowie den Sauerstoffverbrauch der Tiere.

Zur ersten Frage, in welcher Form die mit der Nahrung aufgenommenen Energiespender abhängig vom Lebensalter der Tiere gespeichert werden: Die Tiere erhielten unabhängig vom Lebensalter allesamt die gleiche Standardnahrung ad libitum. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Abb. 1 dargestellt. Es handelt sich im einzelnen um Mittelwerte der jeweiligen Parameter mit ihrer dazugehörigen Streuung. Aus der obersten Kurve dieser Abbildung ist ersichtlich, daß das Wachstum weißer Mäuse ganz vorwiegend in den ersten 6 Wochen erfolgt, da die Tiere darüber hinaus nur noch wenig an Gewicht zunehmen. Wir bezeichnen deshalb weiße Mäuse bis zum Alter von 6 Wochen als wachsende Tiere, bis zu 30 Wochen als ausgewachsene Tiere und was über 1 Jahr ist, als alte Tiere.

Die nächste Kurve dieser Abbildung zeigt, daß die wachsenden Tiere die mit der Nahrung aufgenommenen Energiespender noch vorwiegend in der Leber als Glykogen speichern. Der Glykogengehalt der Leber ist bei den 3 Wochen alten Tieren am größten. Er fällt in den anschließenden 54 Lebenswochen auf die Hälfte ab.

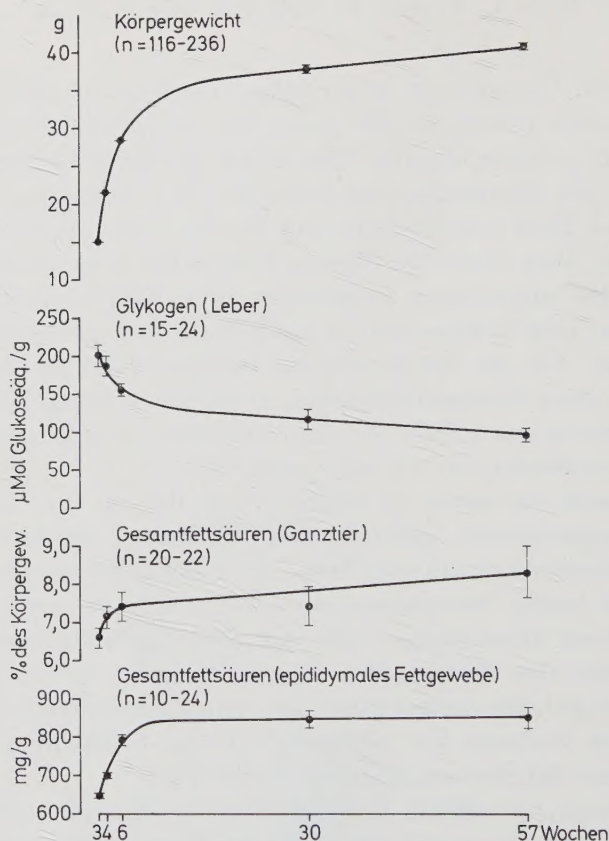


Abb. 1. Körpergewicht, Glykogengehalt der Leber, Gesamtfettgehalt des Tieres in Prozent des Körpergewichts und Gesamtfettsäuren des epididymalen Fettgewebes in mg/g Frischgewicht männlicher weißer Mäuse im Alter von 3, 4, 6, 30 und 57 Wochen. Mittelwerte  $\pm$  SEM aus n Versuchstieren.

Die dritte Kurve zeigt, daß die Tiere mit zunehmendem Alter Energie-reserven in Form von Fetten deponieren. Während bei 3 Wochen alten Tieren nur 6,5% des Körpergewichts aus Fett bestehen, sind es bei den alten Tieren mehr als 8%. Der Gehalt des Nebenbodenfettgewebes an Fettsäuren und Fettsäureestern ist ebenfalls bei ganz jungen und alten Tieren sehr verschieden.

Es läßt sich bereits aus diesen Versuchen, in denen das Leberglykogen, der Gehalt des epididymalen Fettgewebes an Fettsäuren und die Gesamtlipide des Ganztieres bestimmt wurden, schließen, daß junge Tiere die mit der Nahrung aufgenommenen Energiespender als Glykogen speichern, ältere Tiere dagegen vorwiegend als Fett. Doch werden die Voraussetzungen hierfür bereits in den ersten Lebenswochen geschaffen, in denen die Anlage von Fettdepots und die Einlagerung von Triglyzeriden in das Fettgewebe erfolgt.

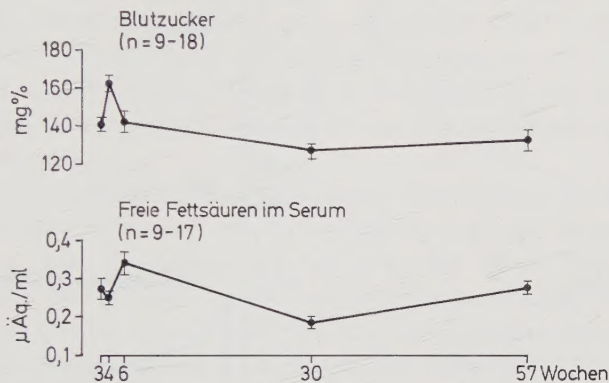


Abb. 2. Blutzucker in mg % und freie Fettsäuren im Serum in µÄq/ml männlicher weißer Mäuse im Alter von 3, 4, 6, 30 und 57 Wochen. Mittelwerte  $\pm$  SEM aus n Versuchstieren.

In der Abb. 2 sehen Sie die Konzentration an Glucose und freien Fettsäuren im Serum in Abhängigkeit vom Alter. Auffällig ist die signifikante Zunahme in der 4. Woche und der steile Abfall des Blutzuckers in der 5. und 6. Woche, der mit einem Anstieg der freien Fettsäuren einhergeht. Da beide Vorgänge zeitlich mit der Abnahme des Leberglykogens und einer erhöhten Anlage von Fettdepots zusammenfallen, wie sich aus der vorausgegangenen Abbildung ergibt, vermuten wir, daß es als Folge eines gesteigerten Fettsäurezyklus zu einem passageren Anstieg der freien Fettsäuren im Serum kommt. Der gleichzeitige Abfall des Leberglykogens und Blutzuckerspiegels könnte damit zusammenhängen, daß neben anderen auch die Fettzellen vermehrt Glucose aus dem Blut ausschöpfen, da das für die Veresterung der freien Fettsäuren benötigte Glycerin-1-Phosphat nur aus der in die Fettzellen aufgenommene Glucose gebildet werden kann.

Die zweite uns interessierende Frage war, welche der beiden Energiereserven dann mobilisiert wrd, wenn man Tiere verschiedenen Alters kurzzeitig hungern läßt, d. h. einen Zustand herbeiführt, in dem der Energiebedarf aller Körperzellen vorwiegend aus den Energiereserven der Leber und des Fettge-

webes gedeckt werden muß. Wie entsprechende Versuche (Abb. 3) ergeben haben, nimmt nach vierstündigem Hungern der Glykogengehalt der Leber wachsender Tiere wesentlich stärker ab als der ausgewachsener Tiere. Bei den alten Tieren ändert sich der Glykogengehalt überhaupt nicht. Daß der aus der Leber an das Blut abgegebene Zucker in vermehrtem Umfang von den Organen

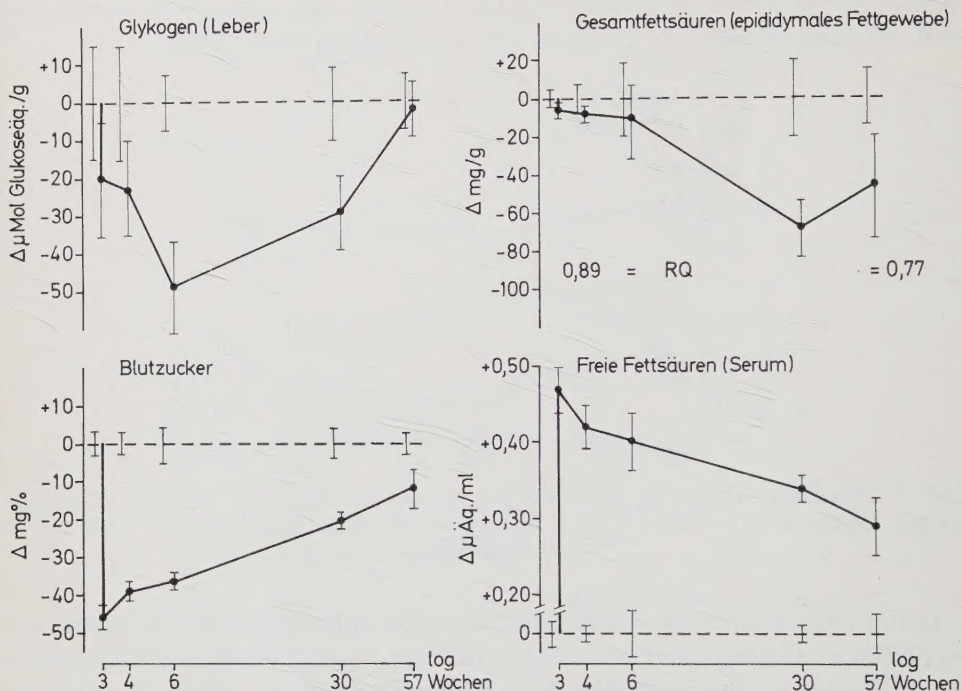


Abb. 3. Die Differenzen  $\Delta$  im Glykogengehalt der Leber, Blutzucker, Gesamtfettsäuren des epididymalen Fettgewebes und der freien Fettsäuren im Serum zwischen 4 Std. hungernden und gefütterten männlichen weißen Mäusen in Abhängigkeit vom Alter der Tiere. Mittelwerte  $\pm$  SEM. Außerdem mittlere Respiratorische Quotienten der 4 und 57 Wochen alten, hungernden Tiere.

aufgenommen und verbrannt wird, ergibt sich daraus, daß der Blutzuckerspiegel trotz verstärkter Glykogenolyse abnimmt, insbesondere wieder bei den jungen Tieren. Die Abnahme des Blutzuckers bei den alten Tieren ist dagegen sehr gering.

Wenn bei den alten Tieren im Hungerzustand das Leberglykogen nicht abnimmt und der Blutzuckerspiegel nur geringfügig sinkt, also wenig Substrat in Form von Glucose mobilisiert wird, woher beziehen die Organe alter Tiere dann ihre Energien im Hungerzustand? Bestimmt man im Hunger den Gehalt des Nebenhodenfettgewebes an Fettsäuren, so zeigt sich (Abb. 3), daß er bei

den jungen, bis zu 6 Wochen alten Tieren nur geringfügig abnimmt, bei den älteren Tieren dagegen stärker vermindert ist. Die gleichzeitige Bestimmung der freien Fettsäuren im Blutserum führt zu folgendem Resultat: Die Konzentration an freien Fettsäuren im Serum ist bei jungen Tieren trotz geringerer Lipolyse höher als bei den alten Tieren, vermutlich deshalb, weil bei letzteren nicht nur mehr Fettsäuren aus dem Fettgewebe an das Blut abgegeben werden, sondern diese Fettsäuren auch vermehrt von den Organen aus dem Blut ausgeschöpft werden, da ja den Organen alter Tiere weniger Kohlenhydrate für die Energiegewinnung zur Verfügung stehen als denen junger Tiere.

Daß sich in der Tat die Organe alter Tiere vorwiegend auf die Verbrennung von Fettsäuren und die jungen Tiere auf die Verbrennung von Kohlenhydraten im Hungerzustand umstellen, ergibt sich aus der Bestimmung des Respiratorischen Quotienten.

Sie wissen, daß bei einem Respiratorischen Quotienten von 1,0 der Körper nur Kohlenhydrate verbrennt, bei einem Respiratorischen Quotienten von 0,7 nur Fettsäuren. Der Respiratorische Quotient der alten Tiere lag bei 0,77, nähert sich also stark einer ausschließlichen Fettverbrennung, während er bei den jungen Tieren zwischen 0,89 und 0,82 lag. Das sind Werte, die auf eine vorwiegende Verbrennung von Kohlenhydraten hinweisen.

Die Stoffwechselwirkungen des Adrenalins wurden an normal ernährten, also nicht hungernden Tieren, 30 min nach subkutaner Verabreichung von  $0,5 \mu\text{g/g}$  Adrenalin untersucht (Abb. 4). Der Glykogengehalt der Leber nimmt bei jungen und ausgewachsenen Tieren stark ab. In den Lebern alter Tiere dagegen kommt es zu keiner Abnahme. Als Folge der vermehrten Zuckerabgabe aus der Leber steigt der Blutzuckerspiegel bei den Tieren bis zum Alter von 30 Wochen stärker an als bei den alten Tieren.

Ähnlich wie das Leberglykogen und der Blutzuckerspiegel verhalten sich bei den alten Tieren nach Adrenalin das epididymale Fettgewebe und die freien Fettsäuren im Blut. Letztere steigen auch bei den alten Tieren noch an, aber in geringerem Grade als bei den jüngeren. Eine signifikante Abnahme des epididymalen Fettgewebes an freien Fettsäuren ist bei den alten Tieren nach Adrenalin nicht feststellbar. Wir haben also bei den alten Tieren in der Leber eine geringere Ansprechbarkeit des glykogenolytischen Systems und im Fettgewebe eine geringere Ansprechbarkeit des lipolytischen Systems gegenüber Adrenalin.

Verminderte Glykogenolyse und verminderte Lipolyse im Alter nach Adrenalin sind zwei Befunde, die sich mit Beobachtungen anderer Autoren gut interpretieren lassen. Eine durch Adrenalin gesteigerte Glykogenolyse kommt bekanntlich in der Leber dadurch zustande, daß dieses Hormon über die Aktivierung der Adenylecyclase zu einer vermehrten Bildung von zyklischem 3,5-AMP

führt, das die Umwandlung der Phosphorylase b in die aktive Form bewirkt. Die aktivierte Phosphorylase spaltet Glykogen in Glucose-1-Phosphat. Aus einer Arbeit von M. W. BIRENSKY u. Mitarb. (1) geht hervor, daß die normale Aktivität der Leberadenylylcyklase bei ganz jungen, noch gesäugten, bei erwachsenen und alten Ratten etwa gleich ist. Sie liegt, bestimmt nach nmol zykl-

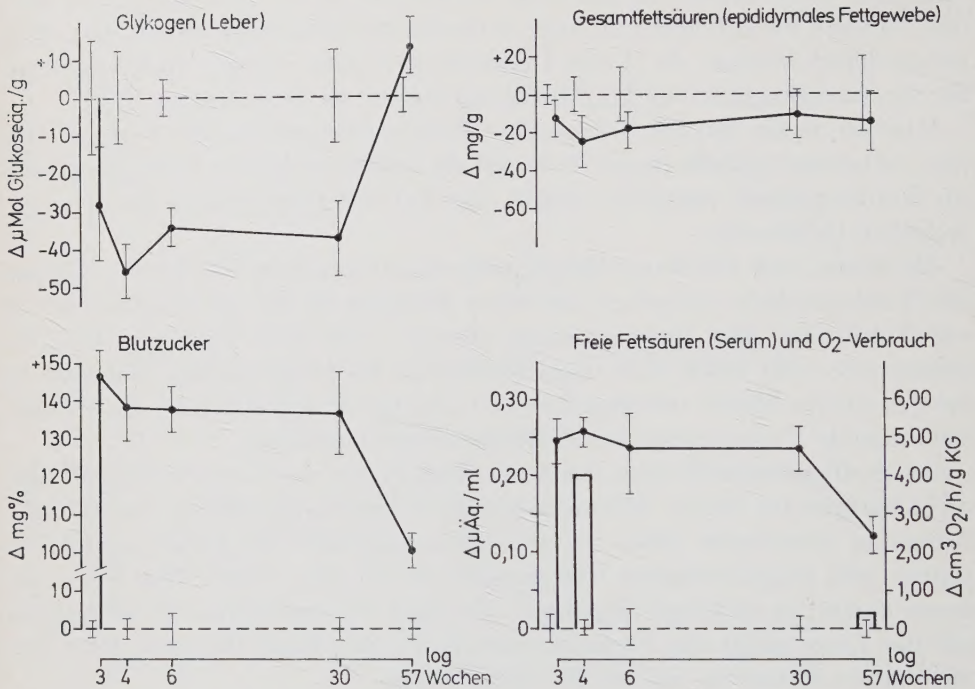


Abb. 4. Die Differenz im Glykogengehalt der Leber, im Blutzucker, im Gehalt des epididymalen Fettgewebes an Gesamtfettsäuren und den freien Fettsäuren des Serums sowie im  $\text{O}_2$ -Verbrauch/h/g zwischen Kontrollen und Tieren, die 30 min vorher  $0,5 \mu\text{g/g}$  Suprarenin als Hydrochlorid subkutan erhielten, in Abhängigkeit vom Alter. Mittelwerte  $\pm$  SEM.

lischem  $3,5\text{-AMP/g Protein/6 min}$ , zwischen  $6,9$  und  $7,2 \text{ nmol } 3,5\text{-AMP/g Eiweiß/6 min}$ . Ihre  $3,5\text{-AMP}$  bildende Aktivität läßt sich durch Adrenalin bei den jungen, säugenden Tieren auf  $23,5$ , bei den erwachsenen Tieren auf  $15,1$  und bei den alten Tieren nur auf  $10,2 \text{ nmol } 3,5\text{-AMP/g Eiweiß/6 min}$  steigern. Die Aktivierbarkeit der Adenylylcyklase der Leber durch Adrenalin ist also bei den jungen Tieren  $130\%$  größer als bei den alten.

Die geringere Stimulierbarkeit des lipolytischen Systems im Alter durch Adrenalin ist an weißen Ratten von mehreren Autoren nachgewiesen worden (2–9). Untersuchungen am isolierten Fettgewebe und isolierten Fettzellen

lassen vermuten, daß bei alten Tieren infolge vakuoler Vergrößerungen der Triglyzeridgehalt der einzelnen Fettzellen größer ist als bei den jungen. Es ist klar, daß daraus ein ungünstiges Verhältnis entsteht zwischen der Fettmenge und dem Gehalt des Fettgewebes an lipolytisch wirkenden Enzymen. Schließlich scheint auch die Kapillarisation im Fettgewebe alter Tiere geringer zu sein als bei den jungen.

Wir haben mit Hilfe des Diaferometers an Tieren unterschiedlichen Alters den  $O_2$ -Verbrauch gemessen und eine vom Alter abhängige, unterschiedliche Zunahme des  $O_2$ -Verbrauchs nach Adrenalin beobachtet. Während wir bei den gefütterten, unbehandelten Kontrolltieren keine signifikanten altersabhängigen Unterschiede im  $O_2$ -Verbrauch beobachten konnten – er liegt bei allen Tieren zwischen 6,95 und 6,30  $cm^3 O_2/h/g KG$  –, steigt 30 min nach subkutaner Verabreichung von 0,5  $\mu g/g$  Adrenalin der  $O_2$ -Verbrauch bei den Tieren im Alter von 4 Wochen um 58,5% und bei den 1 Jahr alten Tieren nur um 10,5% an. Wie diese Versuche zeigen, wird bei jungen wachsenden Tieren der  $O_2$ -Verbrauch durch Adrenalin wesentlich stärker erhöht als bei den alten Tieren. Der Energieumsatz ist also bei den jungen Tieren wesentlich größer als bei den alten. Wir glauben, in unseren Stoffwechselversuchen einen Grund für dieses unterschiedliche Verhalten gegenüber Adrenalin gefunden zu haben. Es ist anzunehmen, daß im Alter neben einem verminderten kalorigenen Effekt des Adrenalins auf die Oxydationsprozesse in den Körperzellen als weitere Ursache der geringen Stoffwechselsteigerung nach Adrenalin eine verminderte Glykogenolyse und Lipolyse als Ursachen in Frage kommen.

### Zusammenfassung

Der Glykogengehalt der Leber ist bei den 3 Wochen alten Tieren am höchsten, nimmt in den anschließenden 3 Wochen erheblich ab und liegt bei den 57 Wochen alten Tieren um 50% unter dem 3 Wochen alten Tiere.

Zwischen der 3. und 6. Woche, in der gleichen Zeit also, in der das Leberglykogen stark abnimmt, nimmt der Gehalt des epididymalen Fettgewebes an Fettsäuren stark zu. Er steigt bei 30 und 57 Wochen alten Tieren gegenüber 6 Wochen alten Tieren kaum mehr an.

Auch das Gesamtfett der Tiere steigt in der kurzen Wachstumsphase am stärksten an und nimmt bis zur 57. Woche nur noch wenig zu.

Die Konzentrationen an Glucose und freien Fettsäuren im Serum zeigen keine altersabhängigen Besonderheiten, mit der einen Ausnahme, daß der Blutzucker im Alter von 4 Wochen und die freien Fettsäuren im Alter von 6 Wochen gegenüber jüngeren und älteren Tieren signifikant erhöht sind.

Nach vierstündigem Nahrungsentzug sind bei jungen, männlichen weißen Mäusen der Glykogengehalt der Leber und der Blutzuckerspiegel wesentlich stärker abgesunken als bei den alten Tieren. Umgekehrt hat der Gehalt des epididymalen Fettgewebes an Fettsäuren bei den alten Tieren stärker abgenommen als bei den jungen. Als Folge der stärkeren Ausschöpfung des Blutes ist der Gehalt an freien Fettsäuren im Serum bei den alten Tieren geringer als bei den jungen.

Die Unterschiede im respiratorischen Quotienten zwischen alten und jungen Tieren weisen auf eine überwiegende Fettverbrennung bei den alten und eine Kohlenhydratverbrennung bei den jungen Tieren hin.

Andere Autoren haben gezeigt, daß bei alten Tieren der Einfluß des Adrenalins auf das glykogenolytische System der Leber und auf die Lipolyse im Fettgewebe wesentlich geringer ist als bei den jungen. Dementsprechend fanden wir, daß 30 min nach subkutaner Verabreichung von 0,5 µg/g Adrenalin bei den alten Tieren im Gegensatz zu den jungen der Glykogengehalt der Leber nicht abnimmt und der Blutzuckeranstieg geringer ist. Auch der lipolytische Effekt des Adrenalins auf das epididymale Fettgewebe und der Anstieg der freien Fettsäuren im Serum sind bei den alten Tieren geringer als bei den jungen. Die verminderte Aktivierbarkeit des lipolytischen und glykogenolytischen Systems bei den alten Tieren macht verständlich, daß die O<sub>2</sub>-Verbrauchssteigerung nach Adrenalin geringer ist als bei den jungen Tieren, da die energieliefernden Substrate (Glucose, freie Fettsäuren) von seiten der Leber und des Fettgewebes nicht in ausreichendem Maße zur Verfügung gestellt werden können.

#### Literatur

- (1) BITENSKY, M. W., V. RUSSELL, M. BLANCO: *Endocrinology* 86: 154 (1970).
- (2) JELINKOVÁ-TENOROVÁ, M., Z. HRUZY: *Gerontologia* 7: 168 (1963).
- (3) JELINKOVÁ, M., Z. HRUZA: *Physiol. Bohemoslov.* 13: 327 (1964).
- (4) JELINKOVÁ, M., M. MYSLIVECKOVÁ, Z. HRUZA: *Physiol. Bohemoslov.* 14: 146 (1965).
- (5) JELINKOVÁ, M., Z. HRUZA: *Physiol. Bohemoslov.* 16: 48 (1967).
- (6) JELINKOVÁ, M., E. STUCHLIKOVÁ: *Exp. Geront.* 3: 193 (1968).
- (7) JELINKOVÁ, M., E. STUCHLIKOVÁ, M. SMRZ: *Exp. Geront.* 5: 257 (1970).
- (8) PÁRIZKOVÁ, J., L. STANKOVÁ: *Nutr. Dieta* 9: 43 (1967).
- (9) PEXIEDER, T.: *Cs. Fysiol.* 13: 502 (1964).

## Lebenslauf

Am 7. Oktober 1943 wurde ich als Sohn des Arztes Dr. René Schubert und seiner Ehefrau Anneliese Schubert, geb. Krüger in Tübingen geboren und evangelisch getauft.

1948 besuchte ich die Volksschule. Nach der Aufnahmeprüfung für die Oberschule kam ich zuerst auf die Waldorfschule und dann an das mathematisch-naturwissenschaftliche Kepler-Gymnasium. Als mein Vater einem Ruf an die Medizinische Klinik der Städtischen Krankenanstalten von Nürnberg bekam, zogen wir 1962 nach Rückersdorf/Kreis Lauf. Zu dieser Zeit kam ich auch an das staatlich anerkannte Internat Urspring in Württemberg, wo ich am 4. März 1965 das Zeugnis der Reife erhielt.

Im Sommersemester 1965 begann ich an der Universität Erlangen-Nürnberg mit dem Medizinstudium. Nach 2 Semestern legte ich dort das Vorphysikum und nach weiteren 3 Semestern das Physikum ab. Im 2. klinischen Semester studierte ich einen Sommer lang in Hamburg, um anschließend mein Studium in Erlangen fortzusetzen. Zu dieser Zeit begann ich auch an dem Pharmakologischen Institut in Erlangen bei Herrn Professor Dr. F. Heim meine Doktorarbeit. Am 12. Februar 1971 habe ich mein Medizinstudium mit dem Bestehen des Staatsexamens abgeschlossen.

